Wolbachia 感染对拟澳洲赤眼蜂寿命、生殖力和嗅觉反应的影响

潘雪红[1,2],何余容[1,*],陈科伟[1],潘 飞[1],盘 梅[1]

(1. 华南农业大学昆虫学系,广州 510640;2. 广西甘蔗研究所,南宁 530007)

摘要:研究了通过共享同一寄主卵,短管赤眼蜂 *Trichogramma pretiosum* 体内共生的 *Wolbachia* 被水平传递到拟澳洲赤眼蜂 *T. confusum* 体内后,*Wolbachia* 对新宿主拟澳洲赤眼蜂的影响。结果表明:*Wolbachia* 的侵染能使拟澳洲赤眼蜂进行不完全的产雌孤雌生殖,增加拟澳洲赤眼蜂子代雌性比例,但却导致了雌蜂寿命缩短和繁殖力降低的生理损失。*Wolbachia* 感染的当代处女蜂及其建立的种群连续 5 代($F_1 \sim F_5$),其子代雌蜂百分率分别为 79.17%、76.60%、68.66%、72.58%、68.15%和 64.06%,基本上呈现出逐代降低的趋势,并越来越接近对照的 63.85%。处女蜂及 $F_1 \sim F_5$ 代雌蜂的平均寿命分别为 4.33、5.50、5.60、6.68、7.32 和 7.50 天,而未感染交配雌蜂寿命为 7.59 天;处女蜂及 $F_1 \sim F_5$ 代雌蜂平均产卵量分别为 11.33、70.00、86.41、93.90、102.92 和 124.38 粒/雌,除 F_5 代外,均显著低于未感染交配雌蜂的产卵量 134.81 粒/雌。用四臂嗅觉仪测定了 *Wolbachia* 新宿主拟澳洲赤眼蜂对寄主小菜蛾的嗅觉反应,结果表明 *Wolbachia* 的侵染具轻微干扰拟澳洲赤眼蜂嗅觉反应的负面影响。未感染 *Wolbachia* 的拟澳洲赤眼蜂及 *Wolbachia* 供体短管赤眼蜂对寄主小菜蛾具较强的嗅觉反应,其雌蜂在小菜蛾腹部鳞片正己烷提取液和小菜蛾卵表正己烷提取液处理区内滞留时间显著或极显著长于对照区。而感染 *Wolbachia* 的拟澳洲赤眼蜂 F_2 代和 F_3 代雌蜂,尽管在小菜蛾腹部鳞片正己烷提取液处理区内滞留时间比对照区长,但没有达到显著水平;其 F_2 代雌蜂在小菜蛾卵表正己烷提取液处理区内滞留时间与对照区相比,也没有达到显著水平。随 *Wolbachia* 在拟澳洲赤眼蜂种群中垂直感染代数的增加,拟澳洲赤眼蜂对寄主小菜蛾的嗅觉反应恢复正常,在 *Wolbachia* 感染后的 $F_4 \sim F_6$ 代,雌蜂在两种提取液处理区内的滞留时间均显著或极显著长于对照区。

关键词:拟澳洲赤眼蜂;*Wolbachia*;新宿主;产雌孤雌生殖;生理损失;嗅觉反应

中图分类号:Q968 **文献标识码**:A **文章编号**:0454-6296(2007)03-0207-08

Effect of *Wolbachia* infection on longevity, fecundity and olfactory response of *Trichogramma confusum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae)

PAN Xue-Hong[1,2], HE Yu-Rong[1,*], CHEN Ke-Wei[1], PAN Fei[1], PAN Mei[1] (1. Deparment of Entomology, South China Agricultural University, Guangzhou 510640, China; 2. Guangxi Sugarcane Research Institute, Nanning 530007, China)

Abstract: The effect of *Wolbachia* on biology and olfactory response of its new host, *Trichogramma confusum*, was studied after successful interspecific horizontal transfer of *Wolbachia* from *T. pretiosum* to uninfected *T. confusum* by sharing the same host egg. The results showed that *Wolbachia* infection could induce incomplete thelytokous parthenogenesis of *T. confusum* and therefore enhanced the female proportion of its new host, but meanwhile caused a physiological cost by curtailing longevity and reducing fecundity of its new host. The female percentage in progeny of the newly infected virgin female and its subsequent generations ($F_1 - F_5$) were 79.17%, 76.60%, 68.66%, 72.58%, 68.15% and 64.06%, respectively, showing a decreasing tendency with the increasing of generations after horizontal transferring and gradually approaching that of the uninfected and mated *T. confusum* (63.85%). The average longevity of newly infected virgin female and $F_1 - F_5$ females was 4.33, 5.50, 5.60, 6.68, 7.32 and 7.50 days, respectively, shorter than that of the

基金项目:国家自然科学基金(30370966)

作者简介:潘雪红,女,1979 年生,山东烟台人,硕士,主要从事害虫生物防治研究

* **通讯作者** Author for correspondence, E-mail: yrhe@scau.edu.cn

收稿日期 Received:2006-09-25;**接受日期** Accepted:2007-03-01

longevity of uninfected and mated *T. confusum* (7.59 days). The fecundity of the newly infected virgin female and F_1 – F_5 females was 11.33, 70.00, 86.41, 93.90, 102.92 and 124.38 eggs per female, respectively, all except F_5 generation significantly less than 134.8 eggs per female, the fecundity of the uninfected and mated female. The olfactory response of the newly *Wolbachia*-infected *T. confusum* to the diamondback moth (DBM), *Plutella xylostella*, was tested by using a four-armed olfactometer under laboratory conditions. The results indicated that *Wolbachia* had a slightly negative effect on *T. confusum* by interfering their olfactory response. For the uninfected *T. confusum* and the *Wolbachia*-donor species *T. pretiosum*, their adults were detained significantly longer time in the treated areas than in the control area and showed a very strong olfactory response to hexane extract of abdominal scales and eggs of DBM. The retention time of F_2 and F_3 adults of the *Wolbachia*-infected *T. confusum* was longer in the treated area of hexane extract of abdominal scales of DBM than in the control area, but it did not reach to a significant level. The retention time of F_2 adults was longer in the treated area of hexane extract of DBM eggs than in the control area, but it also did not reach to a remarkable level. However, the retention time of F_4 – F_6 adults of the *Wolbachia*-infected *T. confusum* was significantly longer in the treated areas of above two hexane extracts than in the control area, suggesting that the normal olfactory response of *T. confusum* to DBM was recovered with the increasing of generations after horizontal transferring of *Wolbachia*.

Key words: *Trichogramma confusum*; *Wolbachia*; new hosts; thelytokous parthenogenesis; physiological cost; olfactory response

Wolbachia 是一类广泛存在于节肢动物生殖器官内,专营细胞内寄生的立克次氏体微生物。它们通过宿主卵的细胞质进行垂直传播,在长期的进化过程中形成了多种调控其宿主生殖方式的机制,如胞质不亲和(cytoplasmic incompatibility, CI)、诱导孤雌生殖(parthenogenesis inducing, PI)、雌性化(feminizing)、杀雄(male killing)等(Hoffman *et al.*, 1990; Werren, 1997; Stouthamer *et al.*, 1999; 龚鹏等, 2002)。其中,由 *Wolbachia* 共生诱导的赤眼蜂产雌孤雌生殖现象在害虫生物防治上具有以下潜在优势(Stouthamer, 1993; Pintureau *et al.*, 1993):由于产雌孤雌生殖的赤眼蜂全由雌蜂组成,因此将有更高的种群增殖率和更高的寄生能力,可以减少赤眼蜂淹没式释放时的放蜂数量;其次,由于不需要与雄性个体交配就能产生雌性后代,赤眼蜂更容易在低密度下进入新生境并建立种群,这对赤眼蜂在田间种群的建立和扩散具有重要的生态学意义;同时,由于不再需要饲养无寄生效能的雄性个体,产雌孤雌生殖在很大程度上能降低赤眼蜂生产的成本,提高赤眼蜂工厂化生产的产品质量。

垂直传递是 *Wolbachia* 在宿主种内的基本传递模式,即 *Wolbachia* 通过对母代的共生传给子代(Hoffman *et al.*, 1990)。但由于 *Wolbachia* 的分子系统发育与其宿主的分子系统发育不一致,因此推测 *Wolbachia* 在不同的宿主之间存在普遍的水平传递(Schilthuizen and Stouthamer, 1997; Vavre *et al.*, 1999;丛斌等, 2005)。实验室研究证明,*Wolbachia* 在同一宿主种内以及不同种宿主间的确存在不同程度的水平传递(Jager *et al.*, 1997; Poinsot *et al.*, 1998; Huigens *et al.*, 2000, 2004a)。如 *T. kaykai* 的含菌个体和不含菌个体在同一粉纹夜蛾卵内发育时,*Wolbachia* 可由含菌个体传递给不含菌个体,并垂直传递给下一代(Schilthuizen *et al.*, 1998; Huigens *et al.*, 2000)。*Wolbachia* 在赤眼蜂种间传递是否成功通常与供体赤眼蜂和受体赤眼蜂的种类有关,如 Huigens 等(2004a)通过不同赤眼蜂种共享同一寄主卵的方法,将 *Wolbachia* 从 *T. deion* 水平传递到 *T. kaykai* 体内,仅在感染当代有 5.5% 的 *T. kaykai* 处女蜂能表达出孤雌产雌现象,但用 *wsp* 基因的 PCR 可检测到 *Wolbachia* 在新宿主中能垂直传递 9 代。而当 *Wolbachia* 从 *T. kaykai* 水平传递到 *T. deion* 时,没有 *T. deion* 处女蜂能表达出孤雌产雌现象。通过人为方法,也可以实现 *Wolbachia* 在不同赤眼蜂种间的水平转移,如 Grenier 等(1998)用微注射的方法成功地将短管赤眼蜂中共生的 *Wolbachia* 转移到松毛虫赤眼蜂中,4% ~ 5% 的处女蜂在感染的当代获得了产雌孤雌生殖的能力,尽管在其后未能再发现产雌孤雌生殖现象,但 26 代仍能用 *ftsz* 基因

的PCR 检测到 *Wolbachia* 存在。

Wolbachia 的共生在种群水平上对赤眼蜂除性别调控外，对其他生物学、生态学特性如产卵能力、对寄主的搜索能力等方面的影响，也是评价 *Wolbachia* 能否在生物防治中实际应用的重要参考指标。近年来，国内外已有学者对这方面进行了初步探讨（Stouthamer，1993；Stouthamer and Luck，1993；付海滨和丛斌，2005）。据报道，*T. deion*、*T. pretiosum*、*T. cordubensis* 和 *T. kaykai* 感染 *Wolbachia* 后导致整体或部分生育力降低（Schilthuizen and Stouthamer，1997；Silva *et al.*，2000）。Hoogenboom 等（1998）研究表明 *Wolbachia* 感染的赤眼蜂品系在生殖力和寄生能力上均较非感染品系有显著降低。Hohmann 等（2000）比较感染和没有感染 *Wolbachia* 的 *T. kaykai* 的繁殖率，结果表明没有感染 *Wolbachia* 的赤眼蜂繁殖率更高，卵的发育速率更快。Silva 等（2000）在实验室和温室条件下比较了 *T. cordubensis* 和 *T. deion* 的 *Wolbachia* 共生品系与正常品系的生殖能力、扩散能力和寄生能力，结果表明尽管 *Wolbachia* 共生的赤眼蜂生殖力有所降低，但由于扩散能力和实际寄生能力的提高，反而使其生物防治潜力增加了。付海滨和丛斌（2005）研究了感染 *Wolbachia* 和没有感染 *Wolbachia* 的松毛虫赤眼蜂品系对几种寄主卵的选择性，结果表明，两赤眼蜂品系对米蛾 *Corcyra cephalonica*（Stainton）卵和柞蚕 *Antheraea pernyi* 卵的选择性明显高于对亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis*（Guenée）卵的选择性，但对同种寄主卵的选择性在两赤眼蜂品系之间没有差异。

通过不同赤眼蜂种共享同一寄主卵的方法，我们将成功地将短管赤眼蜂体内共生的 *Wolbachia* 水平传递到拟澳洲赤眼蜂体内（另文发表）。为了评价经水平传递后，*Wolbachia* 对新宿主拟澳洲赤眼蜂造成的影响，本文从寿命、生殖力和子代雌性百分率三方面比较了 *Wolbachia* 新宿主拟澳洲赤眼蜂连续垂直传递后代与未感染 *Wolbachia* 的拟澳洲赤眼蜂的生物学特性；另外，利用四臂嗅觉仪测试了 *Wolbachia* 新宿主拟澳洲赤眼蜂连续数代对寄主小菜蛾雌蛾腹部鳞片和卵表正己烷提取液的嗅觉反应，分析 *Wolbachia* 对新宿主赤眼蜂寻找寄主行为的潜在影响。

1　材料与方法

1.1　供试蜂种和寄主

短管赤眼蜂 *Trichogramma pretiosum* Riley：为从法国引进的被 *Wolbachia* 完全感染的短管赤眼蜂纯化品系。在室温 25℃左右，70% ~ 80% RH 和 16L∶8D 条件下用米蛾卵繁蜂保种。室温条件下其世代历期约为 11 天。

拟澳洲赤眼蜂 *Trichogramma confusum* Viggiani：于 2003 年采自广州十字花科蔬菜地被寄生的小菜蛾卵。在室温 25℃左右，70% ~ 80% RH 和 16L∶8D 条件下用米蛾卵繁蜂保种，室温条件下世代历期约为 9 天。用 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因的 PCR 检测，没有发现 *Wolbachia* 的自然感染。

米蛾 *Corcyra cephalonica* Stainton：来源于广东所昆虫所，已在室内连续饲养 20 年以上，本实验室用面粉 + 玉米粉饲养。用 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因的 PCR 检测，未发现 *Wolbachia* 的自然感染。每日收集当日新产的米蛾卵于带棉塞的试管中，置于 4℃冰箱内保存，4 天内使用。在繁蜂前用 30 W 的紫外灯 30 cm 处照射 1 h 左右，以杀死米蛾胚胎。

小菜蛾 *Plutella xylostella* Linnaeus：2004 年采自广州十字花科蔬菜地，在室内用菜心苗繁育。

1.2　新宿主拟澳洲赤眼蜂感染 *Wolbachia* 及其检测方法

新宿主拟澳洲赤眼蜂感染 *Wolbachia* 方法：将已交配、有产卵经验、足量的受体拟澳洲赤眼蜂雌蜂（蜂卵比约为 1∶50）引到新鲜的米蛾卵卡上（6 cm × 4 cm），待其产卵寄生约 2 h 后将其全部赶走，在 25℃下发育 8 h，然后再按蜂卵比约为 1∶10 接入过量的 *Wolbachia* 供体短管赤眼蜂，让其在已被受体赤眼蜂寄生的卵上重复寄生 24 h，尽可能使 *Wolbachia* 供体赤眼蜂和其受体拟澳洲赤眼蜂共同寄生同一寄主卵，然后置于 25℃，70% ~ 80% RH 条件下发育。为了确保共寄生后所获雌蜂为未交配的处女雌蜂，在受体赤眼蜂出蜂的前 1 或 2 天，即在赤眼蜂发育阶段的蛹后期，用解剖针将赤眼蜂蛹从寄主卵中解剖出，放到直径为 1 cm，长 5 cm 的指形管中进行单头单管饲养观察，待羽化后在解剖镜下检查蜂的种类和性别，如果是拟澳洲赤眼蜂的雌蜂，则在管壁内涂上 30% 的蜂蜜水喂养，同时接入一小块新鲜的米蛾卵卡（蜂卵比约为 1∶150）。

新宿主拟澳洲赤眼蜂感染 *Wolbachia* 的检测方法：对获得的每一头处女雌蜂的后代进行观察，如果发现后代中出现雌蜂，则对其进行连代繁殖，获得单系（isoline）后代。对孤雌产雌的处女蜂所建立的单系后代种群样品（每代取 30 头蜂）进行 DNA 提取，然后利用 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因的一对特异引物

(81F,691R)进行 PCR 扩增及电泳检测,并将有 *wsp* 基因片断的 PCR 粗产物 60 μL,送交上海生物工程有限公司进行纯化及序列测定。

通过以上两种赤眼蜂共享同一米蛾卵的方法,在近两年的时间里,我们共解剖和观察了上万头赤眼蜂,从其中的 3 887 头拟澳洲赤眼蜂处女雌蜂中,发现 4 头出现了既产雌又产雄的不完全孤雌产雌现象。PCR 检测结果表明这 4 头处女蜂所建立的单系后代 F_2 ~ F_5 赤眼蜂种群中均有 *Wolbachia* 的感染,但第 6 代以后则不能检测出 *Wolbachia*;序列比对检测证据表明,所测得 *Wolbachia* 供体短管赤眼蜂和 *Wolbachia* 受体拟澳洲赤眼蜂中的 *wsp* 基因序列同源性达到了 100%(另文发表)。

1.3 嗅觉反应样品的获得

腹部鳞片正己烷提取物:取初羽化后 24 h 内并充分交配的小菜蛾雌蛾若干只,放入冰箱快速冷冻 5 min 后取出,用小毛刷将其腹部鳞片轻轻扫下,用正己烷浸提 24 h 后取上清液,收集于密闭玻璃瓶中,放入 4℃冰箱备用。

卵表正己烷提取物:将 1 g 左右新鲜小菜蛾卵用 80 mL 正己烷浸提 2 h,取上清液,收集于密闭玻璃瓶中,放入 4℃冰箱备用。

1.4 赤眼蜂寿命、产卵量和雌性百分率测定

以 *Wolbachia* 新宿主拟澳洲赤眼蜂感染当代处女蜂作为一个单系(isoline),其孤雌生殖而建立的种群作为 F_1 代。由于本实验没有得到完全孤雌产雌的拟澳洲赤眼蜂,因此 F_1 代及其以后世代均为两性生殖后代。每代蜂出蜂之前,在管壁上均匀地涂上 30%的蜂蜜水。待出蜂 1 天之后,随机挑取 30 头充分交配的雌蜂,单蜂引入指形管(1 cm × 5 cm)中,喂以 30%蜂蜜水,每蜂供以一小块新鲜米蛾卵卵卡(200 粒左右),进行单蜂单管饲养观察,分别对它们的寿命、产卵量和后代性比进行观察并计数统计。同时,每代都引入适量的蜂于大试管(5 cm × 10 cm)中供以较大一块卵卡(蜂卵比约为 1∶100)进行繁育下一代。每代都重复如上,直到用 PCR 检测不出 *Wolbachia* 为止。以未被 *Wolbachia* 感染的拟澳洲赤眼蜂充分交配的雌蜂和未交配的雌蜂作为对照。

1.5 赤眼蜂嗅觉反应测定

生测装置:采用依 Vet 等(1983)描述由华南农业大学昆虫研究室适当改进仿制而成的四臂嗅觉仪对赤眼蜂进行嗅觉反应测定。该嗅觉仪是测定小型昆虫,特别是寄生蜂行为反应较为简便、可靠的装置。其内部为星状空间,分为 4 个区域,四臂都分别与气味源(或净化空气)、加湿器、流量计、活性炭相连接。其中,流量计用于测量、控制或调节通过四臂嗅觉仪各部分气流的流量,本试验采用的流速为 100 mL/min。嗅觉仪正上方约 1.5 m 高度处为光源,室内温度保持 25℃左右,相对湿度为 60%左右。测试时其中两个对角作为处理区,另外两个作为对照区。以相同体积的正己烷作为对照。

测定方法:将 1 头羽化 24 h 内的待测赤眼蜂雌蜂用一小玻璃管从四臂嗅觉仪顶部中心引入,记录 10 min 内雌蜂停留于嗅觉仪各区的时间和进入次数(停留 5 秒以上计作 1 次)。每测完 1 头赤眼蜂后,先用无水乙醇然后用蒸馏水擦拭测试区域,以雌蜂进入处理区的次数及滞留时间作为判定其对所测定气味的趋性反应标准。每种样品每次至少测定 30 头蜂。每次实验结束后,用洗洁精彻底清洗嗅觉仪及其部件,晾干后用无水乙醇再擦拭一遍,进行另一样品的测试。

1.6 数据统计

对 *Wolbachia* 新宿主拟澳洲赤眼蜂垂直传递后代的寿命、产卵量和雌性百分率用 SAS 软件进行 Duncans 多重比较;对其嗅觉测定的滞留时间、进入次数分别进行数据统计,用 SAS 软件进行配对法 t 检验,计算相应的显著水平。

2 结果与分析

2.1 *Wolbachia* 对新宿主赤眼蜂寿命、产卵量和雌性百分率的影响

在 *Wolbachia* 感染的拟澳洲赤眼蜂当代,处女蜂平均寿命和孤雌生殖的平均产卵量分别为 4.33 天和 11.33 粒,显著低于 F_1、F_2、F_3、F_4、F_5 代及对照,而处女蜂子代雌性百分率(79.17%)则显著高于 F_2 代后的其它世代和对照;随感染 *Wolbachia* 后拟澳洲赤眼蜂繁殖代数的增加,雌蜂寿命和产卵量呈逐渐增加的趋势,而子代雌性百分率则逐渐减少;每相邻两代之间雌蜂寿命没有差异,F_5 代的雌蜂寿命、产卵量和子代雌性百分率与未感染 *Wolbachia* 的拟澳洲赤眼蜂正常交配雌蜂没有显著差异(表 1)。已受感染的拟澳洲赤眼蜂在垂直传递后代的 F_1 ~ F_5 代中,雌蜂寿命和产卵量有逐代增加的趋势,并且越来越接近于正常交配的没有 *Wolbachia* 感染的拟澳洲赤眼蜂的寿命(7.50 天)和产卵量(124.38 粒);雌蜂百分率基本上呈现出逐代降低的趋势(F_3 代除

外)，并且也越来越接近于正常交配的未感染 *Wolbachia* 的拟澳洲赤眼蜂；说明 *Wolbachia* 的感染能提高新宿主拟澳洲赤眼蜂后代的雌性比例，但却付出了寿命缩短和产卵量降低的代价。

表 1　*Wolbachia* 对新宿主拟澳洲赤眼蜂寿命、繁殖力以及性比的影响

Table 1　Effect of *Wolbachia* on longevity, fecundity and sex ratio of new host *Trichogramma confusum*

处　理 Treatment	代别 Generation	寿命(d) Longevity	产卵量(粒) Fecundity	子代雌蜂百分率(%) Female percentage in progeny
	感染当代处女蜂 Newly infected virgin female	4.33 ± 0.19 d	11.33 ± 1.18 e	79.17 ± 3.67 a
Wolbachia 感染的拟澳洲赤眼蜂 *Wolbachia*-infected *T. confusum*	F_1	5.50 ± 0.14 cd	70.00 ± 1.50 d	76.60 ± 0.82 ab
	F_2	5.60 ± 0.05 cd	86.41 ± 0.75 cd	68.66 ± 0.24 c
	F_3	6.68 ± 0.09 abc	93.90 ± 0.85 bc	72.58 ± 0.20 bc
	F_4	7.23 ± 0.07 ab	102.62 ± 0.89 bc	68.15 ± 0.19 cd
	F_5	7.50 ± 0.09 a	124.38 ± 1.09 a	64.06 ± 0.21d
对照(正常的拟澳洲赤眼蜂) Control (uninfected *T. confusum*)	处女蜂 Virgin female	5.91 ± 0.06 bc	105.22 ± 0.79 b	0.00 ± 0.00 e
	正常交配雌蜂 Mated female	7.59 ± 0.06 a	134.81 ± 0.88 a	63.85 ± 0.27 d

表中数据为平均值 ± 标准误，同列数据后的相同字母表示在 0.05 水平上差异不显著(DMRT 法)。The data in the table are mean ± *SE*. The data in the same column followed by the same letter are not significantly different at 5% level (DMRT).

2.2　*Wolbachia* 对新宿主拟澳洲赤眼蜂嗅觉反应的影响

2.2.1　*Wolbachia* 新宿主拟澳洲赤眼蜂对小菜蛾腹部鳞片提取液的嗅觉反应：表 2 表明，未感染 *Wolbachia* 的拟澳洲赤眼蜂及 *Wolbachia* 供体短管赤眼蜂对寄主小菜蛾具较强的嗅觉反应，其雌蜂在小菜蛾腹部鳞片正己烷提取液处理区内滞留时间显著或极显著长于对照，但两种蜂进入处理区和对照区的次数差异不显著。在 *Wolbachia* 感染后的 F_2、F_3 代，尽管拟澳洲赤眼蜂雌蜂在处理区内滞留时间长于对照区，但没有达到显著水平($P = 0.1600$，$P = 0.0702$)；而在 *Wolbachia* 感染后的 F_4、F_5、F_6 代，拟澳洲赤眼蜂在处理区内滞留时间极显著长于对照区；说明 *Wolbachia* 的感染在一定程度上能干扰拟澳洲赤眼蜂对小菜蛾腹部鳞片提取的嗅觉反应，但这种干扰作用随繁殖代数的增加逐渐消失。同样，所试验的感染 *Wolbachia* 的各代拟澳洲赤眼蜂，其进入处理区和对照区的次数均没有显著的差异。

表 2　感染 *Wolbachia* 的拟澳洲赤眼蜂对小菜蛾腹部鳞片提取液的嗅觉反应

Table 2　Olfactory response of *Wolbachia*-infected *Trichogramma confusum* to hexane extracts of abdominal scales of DBM

被试赤眼蜂来源 Source of tested *Trichogramma*		滞留时间 Retention time (s)			进入次数 Number of entering		
		对照 Control	处理 Treatment	*P*	对照 Control	处理 Treatment	*P*
感染 *Wolbachia* 的拟澳洲赤眼蜂 *Wolbachia*-infected *T. confusum*	F_2	269.20 ± 30.37	330.80 ± 30.37	0.1600	2.40 ± 0.24	2.65 ± 0.26	0.4831
	F_3	264.74 ± 25.85	330.84 ± 24.23	0.0702	3.00 ± 0.29	2.63 ± 0.27	0.3530
	F_4	228.85 ± 29.50	356.76 ± 27.07	0.0027	2.00 ± 0.23	2.19 ± 0.18	0.5146
	F_5	207.10 ± 31.96	376.30 ± 28.84	0.0003	1.80 ± 0.23	2.15 ± 0.22	0.2738
	F_6	204.19 ± 36.98	387.50 ± 34.74	0.0011	1.50 ± 0.22	1.88 ± 0.18	0.2011
未感染 *Wolbachia* 的拟澳洲赤眼蜂 *Wolbachia*-uninfected *T. confusum*		195.76 ± 51.95	391.35 ± 50.81	0.0112	2.06 ± 0.48	2.35 ± 0.34	0.6218
Wolbachia 供体短管赤眼蜂 *Wolbachia*-donor *T. pretiosum*		177.77 ± 34.90	390.03 ± 38.06	0.0001	2.90 ± 0.42	3.03 ± 0.41	0.8222

表中数据为平均值 ± 标准误，配对法 *t* 检验，$N = 30$。下同。The data in the table are mean ± *SE*. Paired *t*-test. $N = 30$. The same for the following tables.

2.2.2 *Wolbachia* 新宿主拟澳洲赤眼蜂对小菜蛾卵表提取液的嗅觉反应：表 3 数据表明，未感染 *Wolbachia* 的拟澳洲赤眼蜂及 *Wolbachia* 供体短管赤眼蜂在小菜蛾卵表正己烷提取液处理区内滞留时间极显著长于对照，但两种蜂进入处理区和对照区的次数差异不显著。而在拟澳洲赤眼蜂感染 *Wolbachia* 后的 F_2 代，其雌蜂在小菜蛾卵表提取液处理区内滞留时间长于对照区，但没有达到显著水平（$P = 0.0595$）；而 $F_3 \sim F_6$ 代的拟澳洲赤眼蜂在处理区内滞留时间显著或极显著长于对照区：说明 *Wolbachia* 的感染能在一定程度上干扰拟澳洲赤眼蜂对小菜蛾卵表提取液的嗅觉反应，这种干扰作用也随繁殖代数的增加逐渐消失。

表 3 感染 *Wolbachia* 的拟澳洲赤眼蜂对小菜蛾卵表提取液的嗅觉反应

Table 3 Olfactory response of *Wolbachia*-infected *Trichogramma confusum* to hexane extracts of egg surface of DBM

被试赤眼蜂来源 Source of tested *Trichogramma*		滞留时间 Retention time (s)			进入次数 Number of entering		
		对照 Control	处理 Treatment	*P*	对照 Control	处理 Treatment	*P*
感染 *Wolbachia* 的拟澳洲赤眼蜂 *Wolbachia*-infected *T. confusum*	F_2	255.61 ± 30.11	336.06 ± 28.22	0.0595	2.11 ± 0.18	2.50 ± 0.20	0.1587
	F_3	240.32 ± 31.03	353.68 ± 29.76	0.0123	2.21 ± 0.26	2.42 ± 0.25	0.5600
	F_4	209.10 ± 29.34	369.75 ± 30.92	0.0006	2.60 ± 0.28	2.85 ± 0.21	0.4831
	F_5	198.60 ± 42.65	383.67 ± 39.42	0.0035	1.80 ± 0.24	2.27 ± 0.34	0.2778
	F_6	197.40 ± 25.82	370.80 ± 25.09	0.0000	2.80 ± 0.24	3.05 ± 0.25	0.4678
未感染 *Wolbachia* 拟澳洲赤眼蜂 *Wolbachia*-uninfected *T. confusum*		182.65 ± 22.85	377.30 ± 22.95	0.0000	3.80 ± 0.41	4.15 ± 0.44	0.5616
Wolbachia 供体短管赤眼蜂 *Wolbachia*-donor *T. pretiosum*		196.53 ± 28.25	378.67 ± 29.03	0.0001	2.30 ± 0.34	2.57 ± 0.27	0.5411

比较表 2 和表 3 可以看出，*Wolbachia* 的感染对拟澳洲赤眼蜂-小菜蛾腹部鳞片提取液嗅觉反应干扰作用大于对拟澳洲赤眼蜂-小菜蛾卵表提取液嗅觉反应的干扰作用，间接说明存在于小菜蛾卵表的利它素对拟澳洲赤眼蜂的有更强的吸引作用。同样，所试验的感染 *Wolbachia* 的各代拟澳洲赤眼蜂其进入处理区和对照区的次数都没有显著的差异。

3 讨论

3.1 感染 *Wolbachia* 的新宿主拟澳洲赤眼蜂的生理损失

本研究结果表明，尽管 *Wolbachia* 能增加新宿主拟澳洲赤眼蜂的雌性百分率，但同时也带来了减少寿命、降低雌蜂产卵量的负面影响，但这种负面影响随 *Wolbachia* 在新宿主垂直传递代数的增加呈现出逐渐降低的趋势，并且也越来越接近于未感染 *Wolbachia* 的拟澳洲赤眼蜂正常品系。雌蜂寿命缩短和产卵量的降低是新宿主拟澳洲赤眼蜂为应对 *Wolbachia* 的感染而在生理上付出的代价。

对自然感染 *Wolbachia* 的赤眼蜂，由于组织内大量细菌的存在，*Wolbachia* 的共生往往会造成宿主生理上某些损失（Stouthamer and Luck，1993），这些生理上的损失包括成虫期生殖力下降、成虫前（包括卵、幼虫和蛹期）死亡率的增加以及幼虫的竞争能力下降等。据报道，*T. deion*、*T. pretiosum*、*T. cordubensis* 和 *T. kaykai* 感染 *Wolbachia* 后导致整体或部分生育力降低（Schilthuizen and Stouthamer，1997；Silva *et al.*，2000）。Huigens 等（2004b）研究表明，当寄生于同一寄主卵时，由于感染 *Wolbachia* 的 *T. kaykai* 品系的幼虫竞争能力下降，使成虫前死亡率高达 68%，显著高于未感染品系 16.7% 的成虫前死亡率。Silva（1999）发现，当以地中海粉螟卵作寄主时，被 *Wolbachia* 感染的 *T. cordubensis* 雌蜂在体积上显著小于未感染的 *T. cordubensis* 雌蜂。

3.2 *Wolbachia* 对新宿主生态学方面的影响

Wolbachia 的感染在引起新宿主的生理损失的同时，也会使新宿主在生态上附出一定的代价。本研究结果表明，*Wolbachia* 对原宿主短管赤眼蜂的嗅觉发应没有任何干扰作用，短管赤眼蜂在小菜蛾腹部鳞片及卵表提取液处理区内的滞留时间都显著长于对照区，即小菜蛾对带 *Wolbachia* 的短管赤眼蜂具较强的吸引作用。而当 *Wolbachia* 被水平传递到新宿主拟澳洲赤眼蜂后，对其嗅觉反应有轻微的干扰

作用，表现为被 *Wolbachia* 感染后的 F_2、F_3 代拟澳洲赤眼蜂雌蜂，在小菜蛾腹部鳞片及卵表提取液处理区内的滞留时间与对照区差异不显著，但这种轻微干扰作用随着垂直传递代数的增加而逐渐减弱甚至几乎消失。

Wolbachia 对宿主生态学方面的影响，目前研究较多的是 *Wolbachia* 的感染对赤眼蜂寄主搜索能力的影响。Almeida(2004)从赤眼蜂的行走速度、产卵器对寄主卵的探刺以及产卵行为等方面研究了 *Wolbachia* 感染对 *T. atopovirilia* 寄主搜索行为的影响，结果表明当 *Wolbachia* 在一宿主体内经过长期的适应固定下来后，*Wolbachia* 对宿主的行为几乎不会造成任何影响。Silva 等(2000)在实验室和温室条件下比较了 *T. cordubensis* 和 *T. deion* 的 *Wolbachia* 共生品系与正常品系扩散能力和寄生能力，结果表明 *Wolbachia* 共生反而能提高赤眼蜂扩散能力和实际寄生能力。付海滨和丛斌(2005)研究表明，感染 *Wolbachia* 和没有感染 *Wolbachia* 的松毛虫赤眼蜂品系对同种寄主卵的选择性没有差异。

3.3 *Wolbachia* 造成其新宿主生理和生态损失的原因分析

对于 *Wolbachia* 感染而造成其新宿主生理上的损失乃至生态上的影响，至少有以下两个方面的因素被认为是重要的。第一，在一个新宿主种群中，*Wolbachia* 感染还未达到定性，也就是说寄主由于 *Wolbachia* 感染进行部分产雌孤雌生殖，*Wolbachia* 和寄主的核基因将产生基因组间冲突，即 *Wolbachia* 趋向于 100% 的偏雌性，而寄主的核基因则趋向于至少有雄性的性比(Stouthamer，1997)。在这种情形下，*Wolbachia* 和寄主之间的基因臂竞争将可能接踵发生，即寄主方面竭力抑制 *Wolbachia* 的作用，而 *Wolbachia* 则努力地增强自己传递能力。因此，由于 *Wolbachia* 水平传递而部分产雌孤雌生殖的新宿主将有较高的生理损失。第二，*Wolbachia* 的传递方式也很可能影响着 *Wolbachia* 对其新宿主造成的生理损失。当 *Wolbachia* 在寄主种群中为单一的垂直传递时，寄主基因和 *Wolbachia* 基因由于相同的进化宿命，两者将可能相互适应，从而，寄主将几乎没有生理方面的损失(Herren，1993)。然而，当 *Wolbachia* 垂直传递和水平传递共存的同时，*Wolbachia* 和寄主基因之间由于彼此对立而冲突，最终导致新宿主某些生理和生态方面的损失(Ewald，1994)。

在赤眼蜂的工厂化生产中，繁殖经水平传递 *Wolbachia* 成功后的新宿主赤眼蜂，可以增加后代雌蜂的数量，提高赤眼蜂的生防效能，从而降低生产代价。然而，为了响应 *Wolbachia* 的感染，新宿主赤眼蜂往往需在生理和生态上付出一定程度的代价，如繁殖力降低、寿命缩短、寄主搜索能力受到干扰等。因此在生物防治中，通过人工方法实现 *Wolbachia* 在赤眼蜂种间的水平传递，从而调控赤眼蜂的蜂群性比，其在生物防治中的应用潜力，仍需要进一步的研究和综合评价。

参 考 文 献 (References)

Gong P，Shen ZR，Li ZH，2002. *Wolbachia* endosymbionts and their manipulation of reproduction of arthropod hosts. *Acta Entomologica Sinica*，45(2)：241 – 252.[龚鹏，沈佐锐，李志红，2002. *Wolbachia* 属共生细菌及其对节肢动物生殖活动的调控作用. 昆虫学报，45(2)：241 – 252]

Almeida RP，2004. Trichogramma and Its Relationship with *Wolbachia*：Identification of *Trichogramma* Species，Phylogeny，Transfer and Costs of *Wolbachia* Symbionts. PhD Thesis，Wageningen University，Wageningen，Netherlands. 139 pp.

Cong B，Fu HB，Wang CM，Dai QH，2005. Sequencing and phylogenetic analysis of the *wsp* gene of *Wolbachia* in *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera：Pyralidae). *Acta Entomologica Sinica*，48(5)：815 – 818.[丛斌，付海滨，王翠敏，戴秋慧，2005. 米蛾体内 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因序列测定与系统发育分析. 昆虫学报，48(5)：815 – 818]

Ewald PW，1994. Evolution of Infectious Disease. Oxford：Oxford University Press. 334 – 326.

Fu HB，Cong B，2005. Studies on host preference of the egg parasite *Trichogramma* spp. infected by *Wolbachia*. *Chinese Journal of Biological Control*，21(Suppl.)：83 – 851.[付海滨，丛斌，2005. 感染有沃尔巴克氏体的赤眼蜂对寄主卵的选择性. 中国生物防治，21(增刊)：83 – 85]

Grenier S，Pintureau B，Heddi A，Lassablière F，Jager C，Louis C，Khatchadourian C，1998. Successful horizontal transfer of *Wolbachia* symbionts between *Trichogramma* wasps. *Proc. R. Soc. Lond. B*，265：1 441 – 1 445.

Herren EA，1993. Population structure and the evolution of virulence in nematode parasites of fig wasps. *Science*，259：1 442 – 1 445.

Hoffman AA，Turelli M，Harshman LG，1990. Factors affecting the distribution of cytoplasmic incompatibility in *Drosophila simulans*. *Genetics*，126：933 – 948.

Hoffmann CL，Luck RF，2000. Effect of temperature on the development and thermal requirements of *Wolbachia*-induced and antibiotically cured *Trichogrmma kaykai* Pinto and Stouthamer (Hymenoptera：Trichogrammatidae). *Ann. Soc. Entomol. Brasil.*，29：497 – 505.

Hoogenboom A，Silva IMMS，van Meer MMM，Roskam MM，Stouthamer R，1998. Quality assessments of *Wolbachia* infected versus non infected lines of *Trichogramma deion*. *Proc. Exper. Appl. Entomol.*，9：99 – 104.

Huigens ME，Luck RF，Klaassen RHG，Maas MFPM，Timmermans MJTN，

Stouthamer R, 2000. Infectious parthenogenesis. *Nature*, 405: 178 – 179.

Huigens ME, de Almeida RP, Boons P, Luck RF, Stouthamer R, 2004a. Natural interspecific and intraspecific horizontal transfer of parthenogenesis 2 inducing *Wolbachia* in *Trichogramma* wasps. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 271: 509 – 515.

Huigens ME, Hohmann CL, Luck RF, Gort G, Stouthamer R, 2004b. Reduced competitive ability due to *Wolbachia* inflection in the parasitoid wasp *Trichogramma kaykai*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 110: 115 – 123.

Jager CR, Pintureau B, Grenier S, Heddi A, 1997. Detection of *Wolbachia* within Trichogrammatidae species using FtsZ-PCR, and horizontal transfer by microinjection. *Proc. Exper. Appl. Entomol.*, 8: 47 – 52.

Pintureau B, Louis C, Chapelle L, 1993. Symbiosis between micro-organisms and *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae): use in biological control. *Bull. Soc. Zool.*, 118(2): 159 – 167.

Poinsot D, Bourtzis K, Markakis G, Savakis C, Mercot H, 1998. *Wolbachia* transfer from *Drosophila melanogaster* into *D. simulans*: Host effect and cytoplasmic incompatibility relationships. *Genetics*, 150: 227 – 237.

Schilthuizen M, Stouthamer R, 1997. Horizontal transmission of parthenogenesis-inducing microbes in *Trichogramma* wasps. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 264: 361 – 366.

Schilthuizen M, Honda J, Stouthamer R, 1998. Parthenogenesis-inducing *Wolbachia* in *Trichogramma kaykai* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) originates from a single infection. *Annals of the Entomological Society of America*, 91(4): 410 – 414.

Silva IMMS, 1999. Identification and Evolution of *Trichogramma* Parasitoids for Biological Pest Control. PhD Thesis, Wageningen University, Wageningen, Netherlands. 151 pp.

Silva IMMS, van Meer MMM, Roskam MM, Hoogenboom A, Gort G, Stouthamer R, 2000. Biological control potential of *Wolbachia*-infected versus uninfected wasps: Laboratory and greenhouse evaluation of *Trichogramma cordubensis* and *T. deion* and strains. *Biocontrol Sci. Technol.*, 10: 223 – 228.

Stouthamer R, 1993. The use of sexual versus asexual wasps in biological control. *Entomophaga*, 38: 3 – 61.

Stouthamer R, 1997. *Wolbachia*-induced parthenogenesis. In: O'Neill SL, Hoffmann AA, Werren JH eds. Influential Passengers: Inherited Microorganism and Arthropod Reproduction. Oxford: Oxford University Press. 102 – 124.

Stouthamer R, Breeuwer JAJ, Hurst GDD, 1999. *Wolbachia* pipientis: Microbial manipulator of arthropod reproduction. *Annu. Rev. Microbiol.*, 53: 71 – 102.

Stouthamer R, Luck RF, 1993. Influence of microbe-associated parthenogenesis on the fecundity of *Trichogramma deion* and *T. pretiosum*. *Entomol. Exp. Appl.*, 67: 183 – 192.

Vavre F, Fleury F, Lepetit D, Fouillet P, Bouletreau M, 1999. Phylogenetic evidence for horizontal transmission of *Wolbachia* in host-parasitoid associations. *Mol. Bio. Evol.*, 16(12): 1 711 – 1 723.

Vet LEM, van Lenteren JC, Heymans M, Heymans M, Meelis E, 1983. An airflow olfactometer for measuring olfactory responses of hymenopterous parasitoids and other small insects. *Physiol. Entomol.*, 8: 97 – 100.

Werren JH, 1997. Biology of *Wolbachia*. *Annu. Rev. Entomol.*, 42: 587 – 609.

(责任编辑:袁德成)